Untersuchungen über Ferment- und Antiferment-Wirkungen des Serums.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Ruprecht-Karls-Universität in Heidelberg

vorgelegt von

Georg Hälsen.

Verlagsbuchhandlung von Julius Springer in Berlin.
1915.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Heidelberg.

Dekan: Prof. Dr. Wilms.

Referent: Prof. Dr. R. Gottlieb.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Seitdem Abderhalden durch seine Methoden zum Nachweise proteolytischer Fermente der Serumforschung neue Gesichtspunkte gegeben hat, haben sich eine große Reihe Forscher mit diesen Gebieten beschäftigt, die angegebenen Methoden selbst einer genauen Nachprüfung unterzogen, Fehlerquellen aufgedeckt und ihre Zuverlässigkeit an großen Versuchsreihen erprobt, sowie die theoretischen Voraussetzungen einer Kritik unterzogen. Der Streit über die verschiedenen Fragen ist auch heute noch nicht entschieden.

Da verschiedene Forscher über unspezifische Resultate berichten und daher der Methode jeden klinischen Wert absprechen mit dem Hinweis darauf, daß unspezifische quantitative Differenzen im Fermentgehalt vorlägen, sollte auf Veranlassung von Dr. Fränkel, hier durch Paralleluntersuchungen festgestellt werden, inwieweit bei positiver Abderhaldenreaktion auch eine Steigerung sonstiger proteolytischer Fermente oder Antifermente im Serum nachweisbar war. Die Arbeit stellt also eine Ergänzung der früheren, meist mit dem Dialysierverfahren angestellten Untersuchungen aus der serologischen Abteilung des Krebsinstitutes dar, über deren Resultate Deetjen, Fränkel, Halpern, Gumpertz und andere in früheren Arbeiten berichtet haben. Ich kann deshalb hier auf diese Arbeiten verweisen, sowie auf das reichhaltige Literaturverzeichnis, das Abderhalden in seinem Buche über die Abwehrfermente gibt.

Mit der optischen Methode hat insbesondere bei Gravidität Rübsamen gute Erfolge zu verzeichnen, indem er unter 62 Versuchen kein Fehlresultat erhielt, also mit Abderhaldens Ergebnissen ganz übereinstimmt, das Dialysierverfahren wandte er 94 mal an und hatte ebenso glänzende Resultate. Zwei Carcinomsera und ein männliches Serum er-

gaben mit Placenta keine positive Reaktion. Anders berichten Freund und Brahm über die optische Methode und ihren Vergleich mit dem Ausfall der Ninhydrinreaktion. Unter 134 Fällen deckte sich das Ergebnis der Polarisation 97 mal mit dem klinischen Befund und unter 99 Kochproben 66 mal. Diese Forscher geben den verschiedenen Peptonen die Schuld für die Versager, die mit verschiedenen Seren ungleichmäßig schnell reagieren sollen. Außerdem empfehlen sie, die Drehung längere Zeit zu verfolgen, da oft erst nach 48 Stunden ein geringer Abbau nachweisbar sei. 11 Sera änderten schon allein in der Serumkontrolle ihre Drehung um 0,05 bis 0,07°. Bei den mit beiden Methoden verglichenen 92 Seren fanden sie 61 mal Übereinstimmung. Auch spätere Untersuchungen brachten ihnen keine besseren Resultate.

Kjaergaard hat mit der optischen Methode auch keine spezifischen Erfolge sehen können. Er fand schon mit dem Serum von Normalen, Nichtgraviden Drehungen von 0,03 bis 0,04° in 24 Stunden. Er möchte Drehungen von 0,05° nicht für Fehler halten, sondern für den Ausdruck von Anwesenheit peptolytischer Fermente in jedem Serum. Interessant ist auch bei diesem Autor, daß bei Frauen 1 bis 2 Tage vor der Menstruation im Polarisationsrohr Werte abgelesen werden konnten, die an der Grenze 0,05° und darüber lagen, die aber wieder absanken, wenn man 10 Tage postmenstruell untersuchte.

Neuerdings haben Thar und Kotschneff ähnliche unspezifische Resultate erzielt. Einerseits beobachteten sie unter 20 Gravidenseren 14 mal Drehungen von mehr als 0,05°, 6 mal weniger, andererseits sahen sie bei 6 Normalen 3, die 0,05° und darüber drehten, 2 mit 0,04° und 1 mit 0,03° Drehungsänderung. Im Eisschrank bemerkten sie keine Änderung der Anfangsdrehung, mit Seidenpepton drehten 2 um 0,03°.

Da unser Institut im Besitze eines ausreichenden Polarisationsapparates ist, so sollte einerseits die Brauchbarkeit der optischen Methode festgestellt werden, vor allem aber andererseits die bei uns erhaltenen Resultate der Dialysiermethode mit der optischen verglichen und daneben andere Fermentmethoden zum Vergleich mit der Abderhaldenschen Reaktion herangezogen werden.

Zunächst möchte ich die mit dem optischen Verfahren gewonnenen Resultate mitteilen.

Ich hielt mich bei der Bereitung der Peptone an die Vorschriften Abderhaldens, wie sie insbesondere in den „Abwehrfermenten“ 3. Aufl. 1913 mitgeteilt sind. Zur Verarbeitung wurden uns aus der hiesigen Frauenklinik Placenten freundlichst zur Verfügung gestellt, ebenso Carcinome und tuberkulöse Lungen aus dem pathologischen Institut. Die Placenten wurden möglichst bald nach der Geburt von den Eihäuten befreit, dann innerhalb eines Haarsiebes mit den Fingern in kleine Stücke zerdrückt, während das Sieb in einer Emailschale

mit Wasser stand. Hierdurch wurde erreicht, daß die Gefäßbäume, die beseitigt werden sollen, möglichst bis zu den kleinsten Ästen zusammenbleiben, was bei Zerschneiden nicht geschieht. Durch Zerdrücken mit den Fingern werden die Zotten schon in großer Anzahl von den Gefäßbäumen abgerissen, bleiben aber in dem Haarsieb zurück, und sind als das eigentliche spezifische Substrat verwendbar. Auf diesen Punkt macht Lange bei seinen exakten Arbeiten besonders aufmerksam, der betont, daß man nicht etwa in offenem Gefäß unter fließendem Wasser die feinen Teilchen fortschwemmen darf. Auf die geschilderte Weise lassen sich die Stücke auch schnell und leicht von den Blutkoagula befreien. Unter mehrfachem Wechseln des Wassers in der Waschschüssel, in die das Haarsieb hineingestellt wurde, suchte ich die Gefäßbäume heraus, streifte von ihnen mit den Fingern die Zotten möglichst herunter, entfernte auch noch eventuelle Blutkoagula und dunkle Gewebstücke, sowie die feinsten Gefäßenden, die noch einigermaßen sichtbar waren, bis das Ganze eine gleichmäßige, rosafarbene Masse bildete. Dieser Brei wurde zuletzt in einer Flasche mit physiologischer Kochsalzlösung eine halbe bis ganze Stunde lang in der Schüttelmaschine geschüttelt, abgegossen und nochmals mit neuer Kochsalzlösung geschüttelt. So erreichte ich bei dem Arbeiten der letzten Zeit, daß in relativer Kürze der Placentabrei schneeweiß wurde. Im Anfang der Herstellung gelang es oft erst bei vielstündigem Aussuchen nur der feinsten Zotten, eine gleichmäßige einigermaßen weiße Masse zu bekommen, wobei naturgemäß wenig Material übrigblieb.

Dieser Brei wurde dann nach Aufkochen und Ausdrücken zwischen Fließpapier mit der dreifachen Menge 70 $^0/_0$iger Schwefelsäure versetzt und genau drei Tage stehen gelassen, dann mit der 10fachen Menge destilliertem Wasser unter Eiskühlung verdünnt und möglichst schnell mit Bariumhydrat neutralisiert. Diese Maßnahme nimmt viel Zeit in Anspruch, da die Neutralisation peinlichst genau sein soll. Um Fäulnis zu verhüten, wurde alles mit Toluol versetzt. Das Einengen der filtrierten Lösung des Hydrolysats ging bei 40° unter vermindertem Druck vor sich, bis aus dem Ganzen ein gelblicher, sirupöser Rückstand verblieb, der in heißem Methylalkohol aufgenommen und durch ein Filter in eiskaltem Äthylalkohol ausgefällt wurde.

Nachdem sich der Niederschlag, der das Pepton darstellt, abgesetzt hatte, wurde dieser zentrifugiert, nicht filtriert, weil bei letzterem Verfahren immer ein Teil in den Filterporen zurückbleibt, und das Material leicht durch die Fasern des Filters nach dem Trocknen verunreinigt wird. Der zentrifugierte Niederschlag wurde im Vakuumexsiccator getrocknet. Leider entspricht die resultierende Menge Peptons nur wenig der aufgewendeten Zeit und Mühe, denn aus einer Placenta — und ich habe deren 12 verarbeitet — erhielt ich ca. $^1/_4$ g Peptonpulver, das in 5%iger Lösung für gerade 5 Untersuchungen reicht.

Für Carcinompepton verarbeitete ich Carcinome verschiedener Herkunft. Von 2 Magencarcinomen konnte ich die sehr reichlichen Lebermetastasen, die z. T. faustgroße Stücke bildeten, verwenden, dann ein primäres Lebercarcinom. Die Krebsstücke wurden sorgfältig herausgeschnitten und von Bindegewebe und Blutgefäßen befreit, fein zerkleinert, gewässert und ebenso behandelt wie die Placenta. Die sehr hochgradig veränderte Lunge wurde von Bindegewebe und gesunden Partien soweit mikroskopisch überhaupt möglich befreit und nach Wässerung genau wie die anderen Gewebe verarbeitet. Die sorgfältige Reinigung des Materials von Blut und Bindegewebe geschieht von der Überlegung aus, daß nur ganz spezifisches Organeiweiß zur Fahndung auf spezifische Fermente benutzt werden kann. Bindegewebe und Erythrocyten werden bei verschiedenen Erkrankungen eingeschmolzen und beseitigt, so bei Tuberkulose, Carcinom, Entzündungen, Hämatomen u. a. Die Richtigkeit der Annahme von spezifischen Fermenten vorausgesetzt, würden dann nennenswert blut- und bindegewebhaltige Substrate von allen diesen Seren abgebaut werden können. Das spezifische Substrat, das „blutfremd“ im Blute zur Bildung bzw. Mobilisierung von darauf eingestellten Fermenten Anlaß geben soll, sind bei der Placenta die Zotten, die vom Ei ausgehen, bei Carcinom die Krebszellen und -nester, bei der Tuberkulose der Lunge die Tuberkel, die verkästen Herde und die nächste Umgebung von Kavernen.

Eine völlige Isolierung des spezifischen Materials ist bei keinem der drei genannten Substrate möglich. Am reinsten vielleicht noch bei dem Placentargewebe, aber auch dabei sind

die kleinsten Gefäßenden, die den Zotten benachbart sind, von den Zotten selbst schwer oder gar nicht zu trennen. Bei der Bereitung des Materials zur optischen Methode kommt nun ein geringer Bestand an unspezifischen Stoffen weniger in Betracht als bei dem Dialysierverfahren. Denn bei diesem, wo nur ein kleiner, mit der Pinzette faßbarer Teil von $^1/_2$ bis 1 g zu der Serummenge gesetzt wird, ist es naturgemäß von Bedeutung, ob einmal ein Quantum mit viel Zotten und wenig Bindegewebe oder ein andermal Material in umgekehrtem Verhältnis zugefügt wird. Je nach diesen Mengenverhältnissen kann der Ausfall der Reaktion verschieden sein. Erst neuerdings haben Flatow und Kjaergaard auf willkürlichen Ausfall der Reaktion durch Variieren der Organmengen hingewiessn.

Bei der Peptondarstellung tritt eine gleichmäßige Durchmischung des gesamten Materials ein, so daß zu jedem Versuch stets die gleiche Menge spezifischen Substrats verwandt wird. Dieses muß nur so stark vertreten sein, daß es eine Drehungsänderung zu geben vermag, während der Bindegewebe- und Blutanteil unter dieser Schwelle bleiben muß. Eine wichtige Fehlerquelle des Dialysierverfahrens verliert also bei der optischen Methode etwas an Bedeutung.

Bei meinen Versuchen mischte ich im Reagensglas 1 ccm der 5%igen Peptonlösung mit 1 ccm Serum und 0,4 bzw. 0,2 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung und füllte diese Mischung in ein kurzes Polarisationsrohr mit Wassermantel (nach Abderhalden). Das Serum wurde steril entnommen und jedesmal auf Hämoglobin spektroskopisch untersucht. Nur hämoglobinfreies Serum wurde verwendet. Außerdem kann zum Polarisieren nur absolut klares und helles Serum genommen werden, da sonst das Ablesen unmöglich oder schwierig und ungenau ist. Dieser Punkt scheint mir die Verwendungsmöglichkeit der Methode in der Praxis erheblich einzuschränken, da es oft nicht möglich ist, brauchbares Serum zu erhalten. Die beschickten Röhrchen kamen in den Brutschrank von 37° und wurden erstmalig nach $^1/_2$ bis 1 Stunde untersucht. Unser Halbschattenapparat (Schmidt und Hänsch-Berlin) gestattet Ablesungen von 0,01°, entspricht also den Bedingungen, die zur Vornahme der Untersuchungen von Abderhalden gestellt werden. Da der Apparat außerdem im Brutschrank-

zimmer aufgestellt ist, das durchschnittlich eine Temperatur von 32 bis 35° besitzt, so dürfte ein Fehler durch Abkühlung des dem Brutschrank entnommenen Röhrchens bei der Untersuchung nicht sehr in Frage kommen. Aus den Einzelablesungen, deren Differenzen meistens nicht mehr als 0,02 bis 0,03° betrugen, wurde das Mittel gezogen; allerdings kam es auch z. B. bei sehr gelb gefärbten Seren vor, daß die Schwankungen der Einzelablesungen größer waren. Trotz reichlicher Übung waren manchmal auch die aus den Durschschnitten gewonnenen Ablesungen ungenau und auseinanderliegend, ohne daß in der Serum-Peptonmischung ein Grund gefunden werden konnte. Es spielen da jedenfalls im subjektiven Befinden des Untersuchers liegende Umstände mit, Wechsel in Dunkeladaptionsfähigkeit, zufällige Blendung, Indispositionen u. a. Da das Arbeiten am Polarisationsapparat eine erhebliche Anstrengung des Auges bedeutet, um die geringen Helligkeitsunterschiede des Halbschattenfeldes zu erkennen, so wird sich dieser Faktor als Fehlerquelle nicht ausschalten lassen.

Die Ablesungen erfolgten nach der erstmaligen Entnahme anfangs alle 2 bis 3 Stunden, im allgemeinen ca. 24 Stunden lang, in Fällen jedoch, die dann an der Grenze eines positiven Ausschlags, der von Abderhalden auf eine Drehungsänderung von 0,05° angegeben wird, lagen, wurde auch länger untersucht. Es war dann aber bei einer Anzahl von Seren ein Fortschreiten der Drehungsänderung auch mit unspezifischem Substrat nachzuweisen. Dies entspräche den Befunden von Kjaergaard, der eine spezifische Änderung nur als Steigerung eines allgemein proteolytischen Vermögens ansieht, das bei genügend langer Beobachtung oft gefunden werden kann. Bei normalem Serum war auch nach dreitägigem Beobachten keine Änderung zu bemerken. Serumkontrollen von in der Peptonmischung drehenden Seren änderten sich nie, mit Ausnahme eines Serums, das die Drehung um 0,03° änderte, ebenso auch nicht die Peptonlösung allein. Inaktivierte Sera zeigten mit derselben Peptonmischung eine stärkere Anfangsdrehung als die aktiven, was den Untersuchungen von Mießner und Immisch entspricht. In den ersten 4 bis 6 Stunden war meist keine Änderung zu bemerken, diese setzte erst nach 6 bis 12 Stunden ein und erreichte ihren tiefsten Punkt nach ca. 20 bis 22 oder 24 Stun-

den, um dann manchmal wieder anzusteigen. Wenn Trübungen auftraten, wie es trotz peinlichst sterilen Arbeitens öfter vorkam und diese sich später absetzten, so war meist eine stärkere Drehungsänderung eingetreten und beim Umschütteln zeigten sich Präcipitate. Solche Drehungsänderungen, die vielleicht auf bakterielle Zersetzung zurückzuführen sind, zu verwerten, dürfte nicht gut angehen, diese Sera sind im Gegensatz zu Freund und Brahm von der Beurteilung auszuschließen.

Tabelle I.

(Zusammenstellung der Ergebnisse der optischen Methode nach Substraten.)

Nr.	Diagnose	Tuberkulöse Lunge	Carcinom	Placenta
1755	Tuberk. pulm. incip.	0,05		
1775	Mediastinaltumor	0,00		
1815	Sarcoma femoris	0,04		
1814	Prostatacarcinom	0,00		
1833	Atherosklerose	0,00		
1825	normal	0,02		
1849	Carc. uteri	0,06		
1877	Metropathia climact.	0,12		
1884	Carc. oesophagi	0,02		
1904	Tuberc. pulmon.	0,03		
1905	do.	0,00		
106	do.	0,00		
127	Gravidität 9 Monate	0,06		0,05
163	„ 8 „	0,01		0,02
157	Carc. ventric.		0,00	
188	Angina, ulcera	0,00	0,00	
205	Carc. recti recid.	0,00	0,07	0,03
212	Lebercarcinom	0,05	0,07	
230	normal	0,00	0,00	0,01
222	Lebercarcinom		0,06	0,00
255	Epitheliome		0,05	0,06
280	Carc. linguae		0,00	0,02
303	Gravidität 9 Monate	0,00		
309	Affectio apic.	0,08	0,02	
340	Gravidität 9 Monate			0,10
351	Carc. vulvae	0,01	0,08	
387	Abortus 2 Monate		0,03	0,06

In der Tabelle I sind neben der klinischen Diagnose in den drei Rubriken die drei Peptonarten verzeichnet, die zur Untersuchung kamen. In der ersten Reihe sind die Resultate mit tuberkulöser Lunge, in der zweiten mit Carcinom und in der dritten mit Placenta eingetragen. Aus der Tabelle geht hervor, daß eine Anzahl Sera nicht mit homologem Pepton un-

tersucht werden konnte. Unter den angeführten 27 Seren sind 16 mit homologem Pepton untersucht, zwei normale mit 1 bzw. 3 Substraten, außerdem 6 mit heterologem Material und 3 mit klinischen Erkrankungen ohne Beziehung zu einem der drei vorgelegten Peptone. Bei den 16 ersteren fand ich bei 10 Patientenseren mit dem entsprechenden Pepton einen Drehungsausschlag um mindestens 0,05°, was als positiv zu bezeichnen wäre, die andern 6 lagen unter dieser Grenze. Die beiden Normalsera wiesen keine oder nur ganz geringe Unterschiede auf und bildeten so eine Kontrolle dafür, daß die Peptonlösungen nicht schon für sich mit einem Serum ihre Drehung änderten. Die Seren von Arteriosklerose und Angina (Nr. 1823 und 188) zeigten ebenfalls keine Änderung ihrer Anfangsdrehung, dagegen hatte das Serum der Patientin Nr. 1877 einen starken Ausschlag mit Lungenmaterial: der klinische Lungenbefund zeigte über der rechten Spitze eine breite deutliche Dämpfung und hauchendes Exspirium.

Unter den 8 positiven, mehrfach untersuchten Seren wiesen drei (Nr. 127, 212 und 255) auch mit anderem Pepton positive Drehungen auf. Weder war bei Serum 127 und 212 klinisch eine Lungentuberkulose, noch bei 255 eine Gravidität vorhanden. Hier ist der Ausschlag also unspezifisch. Unter den 6 mit heterologischem Material untersuchten Seren reagierte eins (1849) mit Lungenpepton positiv, die Spenderin hatte auch über der linken Lunge klinisch nachweisbare Erscheinungen (nichtklingendes Rasseln), während die anderen ohne Lungenerscheinungen waren.

Ich konnte also bei meinen Versuchen die guten Erfolge Abderhaldens und anderer nicht erzielen, indem von den 27 Seren 21 dem klinischen Befund entsprachen und 6 nicht.

Auch Abderhalden stellt es des öfteren als wünschenswert hin, daß die Resultate beider Methoden verglichen werden sollen, um so Kontrollen für die Richtigkeit sowohl der Methoden als auch ihrer Voraussetzungen zu erhalten; deshalb war es interessant, die von mir erhaltenen Ausschläge an dem gleichzeitig in unserem Institut vorgenommenen Dialysierverfahren zu messen. Es sei hervorgehoben, daß bei diesem letzteren

die Vorschriften Abderhaldens peinlichst genau befolgt wurden, daß die Organe insbesondere sorgfältigst zubereitet und in den Kontrollen, die stets mitgeführt wurden, nie die Ninhydrinreaktion ergaben. Die Dialysate wurden immer sowohl in gewöhnlichen Reagensgläsern als auch in solchen aus Jenaer Glas angesetzt. Nach den Ergebnissen von Deetjen und Fränkel aus unserem Institut sind die Glasarten von Bedeutung und Abderhalden hat auch in seiner neuesten Ausgabe die Verwendung von Jenaer Röhrchen anerkannt und empfohlen. Ich benutzte von den Resultaten der Dialysierproben die mit Jenenser Glas erhaltenen, die mir von Dr. Fränkel zur Verfügung gestellt wurden.

Da wir nur relativ selten Seren in solcher Menge zur Verfügung haben, daß beide Methoden mit entsprechenden Kontrollen angesetzt werden können, so bin ich leider nicht in der Lage, eine größere Anzahl Seren gegenüberzustellen, es ist deshalb Zufall, daß unter den gleichzeitig untersuchten die Mehrzahl von Seren negative Resultate gab. Der Ausfall der Dialysiermethode war mir im allgemeinen vor den Ablesungen nicht bekannt.

Tabelle II.

Vergleich der optischen mit der Dialysiermethode.

Nr.	Diagnose	Carcinom		Placenta		Tuberkulöse Lunge	
		O.	D.	O.	D.	O.	D.
1904	Tbc. pulmon.					−	+
1905	do.					−	+
163	Gravidität 8 Monate			−	−	−	−
157	Carc. ventric.	−	±				
188	Angina, ulcera	−	−			−	±
205	Carc. recti	+	−	−	−	−	−
212	Lebercarcinom	+	−			±	±
230	normal	−	−	−	−	−	−
222	Lebercarcinom	+	−	−	−		
255	Epitheliom	+	+				
280	Carc. ling.	−	±	−	−		
303	Gravidität 9 Monate					−	−
309	Affect. apic.	−	−			+	+
340	Gravidität 9 Monate			+	+		
351	Carc. vulvae	+	+			−	−
387	Abortus 2 Monate	−	−	+	+		

In der Tabelle bedeutet + das Auftreten eines bläulichen Farbtones verschiedener Intensität beim Kochen des Dialysates

und eine Drehungsänderung von 0,05° und darüber beim Polarisieren, ± eine ganz geringe Farbenänderung ohne ausgesprochen bläulich zu sein, bzw. bei dem Serum 212 ein Schwanken der Ablesungen um 0,05° durch eine schon im Beginn vorhanden gewesene geringe Trübung, die das Ablesen sehr erschwerte, so daß diese Drehungsänderung vielleicht nur Ablesungsfehler ist, — bedeutet des Fehlen irgendeines Farbtones und Drehungsänderung einschließlich der innerhalb der Fehlergrenzen liegenden Änderungen bis zu 0,04°. Jede der drei Rubriken: Carcinom-, Placenten- und tuberkulöses Lungensubstrat enthält im Falle der doppelten Untersuchung links, in der Spalte O., das Resultat der optischen und rechts, in der Spalte D., das der Ninhydrinreaktion. Die angeführten 16 Seren zeigen 28 Einzeluntersuchungen. Unter diesen entsprechen 20mal beide Methoden sich völlig, 3mal ist die optische negativ, während das Dialysierverfahren einen zweifelhaften Ausfall zeigt. Außerdem waren 5mal die Resultate verschieden; bei 2 Lungentuberkulosen zeigte das Dialysierverfahren mit entsprechendem Antigen einen fermentativen Abbau, während beim Polarisieren keine Drehungsänderung erfolgte, und 3mal waren Drehungsänderungen nachzuweisen, während das Kochverfahren bei sicherem Carcinom versagte.

Sieht man sich die Tabelle auf die homologen Substrate der einzelnen Seren an, die nur einmal nicht angewendet wurden, so ergibt sich, daß unter 15 Seren 8mal gleichlautende Ergebnisse, von denen 7 mit dem klinischen Befund harmonieren und 1 nicht, und 7mal verschiedene Ausschläge erzielt wurden. Alle Substrate zusammengenommen entsprachen 19 unter den 20 gleichlautenden Resultaten der klinischen Diagnose.

Vor kurzem riet Abderhalden im Anschluß an das Verfahren Grützners, die proteolytischen Fähigkeiten neben den genannten zwei Methoden durch Verwendung gefärbter Organstücke zu prüfen. Grützner hatte zum Nachweis von Pepsin carmingefärbte Fibrinflocken verwandt. Je nach der Stärke der aufgelösten Farbe, die auf eine Verdauung des Fibrins deutete, konnte die proteolytische Kraft der untersuchten Lösung und auch der antitryptischen Wirkung des Blutserums abgelesen

werden. Abderhalden schlug vorläufig vor, die genau wie zum Dialysierverfahren vorbereiteten Organstücke in einer ammoniakalischen Carminlösung 24 bis 48 Stunden zu färben und dann gründlich auszuwaschen, bis kein Farbstoff mehr an das Waschwasser abgegeben wurde. Einige Teilchen, ca. $^1/_2$ bis 1 g, werden dann in kleinen Reagensgläsern mit 1 bis 2 ccm Serum und Toluol beschickt in den Brutschrank gestellt und beobachtet, ob das Serum gerötet wird, was auf einen fermentativen Abbau schließen lassen dürfte. Bei meinen Versuchen, die allerdings nur eine geringe Anzahl Seren umfaßten, konnte ich öfters sehen, daß auch Nichtgravidensera das gefärbte Placentagewebe angriffen und den Farbstoff herauszogen, so daß das Serum rot wurde, während andererseits Gravidenserum keine oder geringe Rötung zeigte. Wie auch Abderhalden selbst sagt, ist die rote Carminlösung nicht ganz geeignet, da der Farbstoff zu leicht auch ohne „Abbau“ abgegeben wird, und er empfiehlt die Versuche auch mit anderen Farben, z. B. Spritblau, die ich nicht weiter verfolgt habe.

Dagegen versuchte ich einen anderen Weg zum Nachweise und bequemen Registrieren von Fermentwirkungen, angeregt durch die schon seit langem gebrauchte Plattenmethode zum Nachweise antiproteolytischer Fermente und insbesondere durch die Farbplattenmodifikation von Kantorowicz und eine andere von Brieger und Schwalm. Da diese Methoden den Vorzug großer Einfachheit haben und leicht objektiv registrierbar sind, suchte ich „spezifische Platten“ herzustellen. Peptonlösungen, wie ich sie zur optischen Methode brauchte, wären wohl geeignet gewesen, waren aber zu kostspielig zu den Versuchen. Gelatineplatten sind nicht brauchbar, da sie keine Brutschranktemperatur aushalten und andererseits selbst ein unspezifisches Substrat für im Serum enthaltene gelatinolytische Fermente darstellen. Ich nahm daher Agar, von dem nur ganz geringe Zusätze nötig sind, um eine erstarrende Schicht zu bilden. Um Placentareiweiß zu bekommen, wusch ich eine Placenta schnell möglichst blutfrei, zerkleinerte sie und ließ sie mit physiologischer Kochsalzlösung über Nacht stehen. So ging fast alles Blut in Lösung, allerdings auch etwas Eiweiß. Dieses Wasser benutzte ich nicht, sondern erst die nochmals auf das Placentagewebe gegossene Kochsalzlösung, die dann mehrere Tage stehen blieb

Wenn ja auch ein Teil des Eiweißes so der Autolyse verfällt, so geht doch ein Teil in Lösung. Das Filtrat betrug ungefähr 2 Liter, dieses wurde im Vakuum bei ca. 40° auf 200 ccm eingeengt. Von dieser Lösung wurden 15 ccm im Wasserbade auf 45° gebracht und erhalten, während vorher Agar (2%) durch Erhitzen auf 98 bis 100° verflüssigt wurde und ebenfalls bei 45° erhalten, wo es noch flüssig ist. 5 ccm hiervon wurden dann mit den 15 ccm Eiweißlösung versetzt und nach Hinzufügen von mehreren Tropfen Karbolfuchsinlösung in heißem Trichter durch etwas Watte filtriert. Diese Mischung wurde dann auf vorher über einer Flamme erwärmte Glasplatten gegossen und mit einem Stöckchen gleichmäßig verteilt, horizontal gehalten, bis es zu erstarren beginnt. Man hat so gleichmäßig gefärbte Farbplatten, die in einer feuchten Kammer aufbewahrt und kurze Zeit erhalten werden können. Wenn nach ca. 1 Tag die Oberfläche etwas angetrocknet war, brachte ich von verschiedenen Verdünnungen eines Serums je einen Tropfen auf die Platte, einen Kochsalztropfen zur Kontrolle, und konnte so sehen, wie weit noch eine Aufhellung durch den Tropfen bewirkt war. Nach ca. 4 Stunden im Brutschrank legte ich die Platte in ein Gefäß kalten Wassers, um die Flüssigkeitstropfen abzuspülen. Ich ging von der Annahme aus, daß das Serum die Placentareiweißschicht mittels der Fermente auflösen und dadurch die Farbe freimachen würde. Durch Unterlegen eines lichtempfindlichen Papiers ließ sich die Wirkung nach dem Vorgang Kantorowicz' anschaulich machen und registrieren. Über die Brauchbarkeit dieser Methode läßt sich ein Urteil noch nicht fällen, da die Zahl der Untersuchungen noch zu gering ist und ich mit Verbesserungen noch beschäftigt bin. Jedenfalls zeigte ein Gravidenserum nach ½stündiger Erwärmung bei 60° einen deutlichen Unterschied gegenüber dem frischen Serum.

Es war sodann die Frage zu untersuchen, ob etwa ein positiver Ausfall einer der erwähnten Abderhaldenschen Methoden auch mit einer Steigerung von anderen unspezifischen proteolytischen oder antiproteolytischen Eigenschaften einherginge, so daß man die Reaktion ganz oder zum Teil auf solche zurückführen könne. Zu diesen Untersuchungen benutzte ich

einerseits die von Neubauer und Fischer angegebene Glycyltryptophanmethode, andererseits die gebräuchlichen Antitrypsinbestimmungsverfahren.

Neubauer und Fischer fanden im Magensaft von Krebskranken ein Ferment, das fähig war, das Dipeptid Glycyltryptophan in seine Komponenten zu zerlegen und das entstandene Tryptophan nachzuweisen. Lenk und Pollak untersuchten Blutserum auf dasselbe Ferment. Halpern u. a. prüften diese Verfahren nach und fanden dieses Ferment bei den verschiedensten Erkrankungen ohne Regelmäßigkeit, so daß sie dieser Methode jeglichen Wert absprechen. Die Versuchsanordnung ist derart, daß verschiedene Verdünnungen des Serums mit je 0,5 ccm einer 0,4%igen Glycyltryptophanlösung, die uns freundlichst von Kalle & Co., Biebrich, zur Verfügung gestellt wurde, und einigen Tropfen Toluol auf 4 Stunden in den Brutschrank von 37° kommen, dann mit 2 bis 3 Tropfen einer 5%igen Essigsäure angesäuert und tropfenweise mit einer halbgesättigten Chlorkalklösung versetzt werden, bis die Färbung nicht mehr zunimmt. Bei Anwesenheit von freiem Tryptophan tritt eine Rosafärbung auf. Das freie Tryptophan ist durch fermentative Zerlegung des Dipeptids entstanden.

Mandelbaum hatte bei seinen Untersuchungen gefunden, daß dieses Ferment bei einer Brutschranktemperatur von 56° in einer Stunde besser wirke. Ich konnte dies nicht beobachten, sah vielmehr, wie auch Saxl bemerkt, daß eine Erwärmung bei 56° die fermentative Kraft nicht immer zerstört, sie oft schädigt und mitunter auch nicht beeinflußt. Ebenso konnte ich auch in normalen oder sonstigen Seren bei längerem Verweilen im Brutschrank als Ausdruck einer Fermentwirkung eine deutliche Reaktion auf Tryptophan konstatieren. Auch Saxls Untersuchungen hatten als Ergebnis der Formoltitrierung, daß verdauende Fermente in normalem Blute reichlich vorkommen. Ferner wurde der fermentative Charakter dadurch wahrscheinlich gemacht, daß halbstündiges Erwärmen auf 60° die Reaktion verhindert.

Ich untersuchte 47 Seren mit dieser Methode, darunter neben normalen solche von verschiedenartigsten Krankheiten. Manche normalen Sera ergaben das Fehlen, andere das Vorhandensein des Fermentes. Carcinomsera waren zum Teil negativ, zum Teil stark positiv; dieselben Schwankungen bei anderen Krankheiten. Jedenfalls war es nicht möglich, irgendeine Regelmäßigkeit im Ausfall dieser Methode im Blutserum festzustellen, so daß ich mich Halpern anschließen muß, der ihr jeglichen diagnostischen Wert abspricht.

Von besonderem Interesse war es indes, zu untersuchen, ob der Ausfall des Dialysierverfahrens dem der Glycyltryptophanprüfung parallel geht.

Bei 38 Seren konnte ich die Resultate der Dialysiermethode erhalten: es zeigte sich keine Parallelität im Ausfall beider Methoden.

Tabelle III.

(Vergleich der Tryptophanmethode mit dem Dialysierverfahren.)

Nr.	Diagnose	Abderh.	Nr.	Diagnose	Abderh.
1628	Menorrhag. Erbr. .	Plac. +	1640	Carc. ventr.	Carc. +
1766	Carc. mammae recid.	Carc. ±	1714	Wöchnerin 7. Tg. .	Plac. +
1773	Carc. ventric. . . .	Carc. ±	1748	Carc. linguae . . .	Carc. +
1758	Submaxill. tumor .	Carc. +	163	Gravidität	Plac. —
1759	Carc. mammae . .	Carc. ±	199	Carc. mammae inop.	Carc. ?
1840	Carc. oesephagi . .	Carc. ±	280	Carc. linguae . . .	Carc. ±
212	Lebercarcinom . . .	Carc. —	230	normal	—
244	Carc. mammae inop.	Carc. +	262	Carc. ventric. . . .	Carc. —
351	Carc. vulvae	Carc. ±	366	Dementia praec. . .	Carc. —
383	Carc. vaginae . . .	Carc. —	384	Epitheliom	Carc. —
	stark positiv			negativ	

In der vorstehenden Tabelle sind einerseits die Seren aufgeführt, die nach meinen Protokollen stark positiv, andererseits die, welche negativ reagierten. Die schwach positiven oder zweifelhaften habe ich in dieser Tabelle fortgelassen; es erhellt aus dieser Zusammenstellung, daß zwar mehrere mit dem Dialysierverfahren negativ reagierende Sera auch keine peptolytische Wirkung zeigten, daß aber eine genaue Übereinstimmung im Ausfall der Reaktion nicht vorhanden war. Es dürfte also nicht angängig sein, den Ausfall der Ninhydrinreaktion mit dem Fehlen oder Vermehrtsein dieser allgemeinen unspezifischen Fermente in Zusammenhang zu bringen.

Weil wir mit der Dialysiermethode nach proteolytischen Fermenten tryptischen Charakters fahnden, so war es besonders interessant zu untersuchen, ob das antitryptische Vermögen dieser Sera ein gleiches Verhalten zeigte. Mit den verschiedenen uns zur Verfügung stehenden Methoden zum Nachweis des Antitrypsins im Serum ist durch Untersuchungen anderer Autoren festgestellt, daß dieses Ferment bei vielen Erkrankungen vermehrt ist, so bei Carcinom, Morbus Basedowii, Nephritis, Fieberkrankheiten, Frauenkrankheiten und auch in den drei ersten Wochen des Puerperiums (Rosenthal). Namentlich bei Carcinom hat man dem antitryptischen Titer besondere Beachtung geschenkt, da dieser in sehr vielen Fällen gesteigert ist.

Zitronblatt, der bei 90% seiner Fälle eine Steigerung fand, beobachtete keinen Zusammenhang mit der Größe des Herdes. Pinkuss erhielt in 90 bis 94% positiven Ausschlag, wenn andere Erkrankungen, besonders Eiterungen, ausgeschaltet werden können. Wenn auch bei Carcinom manchmal ein normaler Titer gefunden wird, so spricht doch bei Carcinomverdacht das Fehlen einer Steigerung gegen die Annahme eines bösartigen Tumors (Boekelmann und Simons, Waelli, Katzenbogen). Bei Differentialdiagnose zwischen Carcinom und Sarkom spricht ein nicht erhöhter Titer gegen Carcinom, da er bei Sarkom gewöhnlich in normalen Grenzen gefunden wird (Krym) Ziemlich übereinstimmend fanden diese Untersucher auch, daß die Antitrypsinbestimmung prognostisch von Bedeutung ist, indem der Titer nach der Operation langsam abfällt und auf der Norm bleibt, während erneutes Ansteigen die Annahme von Metastasen wahrscheinlich macht, wie Brieger ausführlich bei einem Magencarcinomfall schildert, der über längere Zeit regelmäßig auf Antitrypsin untersucht wurde. Man fand so nach der Operation erst Abfall, dann nach langer Zeit staffelförmiges Ansteigen bis zu hohen Werten. Durch die Sektion wurden reichliche Metastasen nachgewiesen.

Bei Ausschluß von Tumoren und anderen Erkrankungen ist die Antitrypsinbestimmung auch für die Schwangerschaftsdiagnose verwertbar. Besonders Rosenthal erwärmt sich sehr für diese Methode und schreibt ihr fast absolute Sicherheit zu, wenn man mehrere Untersuchungen macht. Ein Höherwerden des Titers weist sicher auf Schwangerschaft hin. Zu denselben Resultaten kamen Franz und Jarisch, v. Graff und Zubrzycky, Gammeltoft, der allerdings der Fuldschen Caseinmethode für vergleichende Untersuchungen keinen Wert beimißt, sich vielmehr der Formoltitrierung nach Sörensen bedient. Eine Erhöhung des antitryptischen Vermögens konnte dieser Autor bei graviden Kaninchen und Kühen nicht nachweisen. Auch für die Diagnose bösartiger Geschwülste bietet der antitryptische Titer bei Tieren keinen Anhaltspunkt, wenn er auch manchmal erhöht ist (Mello). Bei Pankreaserkrankungen untersuchte Groß das antitryptische Vermögen und fand, daß die Methoden klinisch brauchbare Resultate liefern, ebenso Meyer, der beim Diabetes die Beziehungen zwischen Antitrypsin und Blutzuckergehalt prüfte. Dieser Forscher stellte beim Adrenalindiabetes des Kaninchens keine Erhöhung des antitryptischen Vermögens, ja eine Verminderung fest, trotz gesteigerten Blutzuckergehaltes, und erklärt dies durch Verminderung der Pankreassubstanz und dadurch des Trypsins.

Während Rosenthal die hemmende Wirkung bei der Caseinverdauung nur auf die Anwesenheit der Eiweißabbauprodukte schiebt und das Antitrypsin für hitzebeständig und nicht spezifisch hält, sind sich die meisten Forscher darin einig, daß es ein echtes Antiferment darstellt, thermolabil, nicht diffusibel und streng auf tryptische Fermente eingestellt sei (Meyer, Kämmerer, Fresemann u. a.). Ich selbst kann bestätigen, daß halbstündiges Erhitzen auf 60° die antifermentative Kraft aufhebt. Das Alter spielt nach meinen Beobachtungen ebenfalls eine Rolle, indem Serum, das über eine Woche im Eisschrank auf-

bewahrt wurde, öfters gar keine antitryptische Kraft mehr besaß. Diese Abnahme ist indes nicht immer wahrzunehmen; der Titer kann auch nach dieser Zeit dieselbe Höhe zeigen.

Ich wandte zu meinen Untersuchungen zuerst die Caseinmethode nach v. Bergmann und Meyer an, später nur die Plattenmethode nach Markus, die infolge ihrer Einfachheit gute, eindeutige Resultate liefert. Da mir das Mischen des Serums mit der Trypsinlösung (Trypsin Merck) mittels der Platinöse zu ungenau erschien, brachte ich in kleine Reagensgläser aus einer Tropfpipette erst die Trypsinlösung von 1 bis 10 Tropfen hinein, dann nach Reinigung mit derselben Pipette je einen Tropfen Serum in jedes Glas. Auf diese Weise läßt sich ein ganz gleiches Verhältnis leicht erzielen. Aus jeder Mischung entnahm ich dann mit einer Platinöse 3 bis 4 Proben und brachte sie auf die Löfflerplatte dicht nebeneinander. Auf diese Weise braucht man für jedes Serum nur eine Platte statt ür jede Verdünnung eine andere. Nach mehrstündigem Aufenthalt ist auf der Platte die Verdünnung abzulesen, die noch gerade eine Vertiefung auf der Oberfläche gemacht hat. Diese bestimmt den Titer. Für normale Seren fand ich so den Titer schwankend zwischen 3 : 1 und 6 : 1. Ob diese Schwankungen individuell verschieden sind oder sich nach dem angewandten Rinderserum richten, habe ich nicht weiter untersucht. Nach den Untersuchungen Giraults und Rubinsteins ist es nicht anzunehmen, daß der Titer bei derselben Person erheblich schwankt, denn diese fanden ihn unbeeinflußt von Hunger und Verdauung; ebenso beobachteten Remedi und Bolognesi keinen Unterschied im Antitrypsingehalt des arteriellen und venösen Blutes, auch nicht zwischen dem Blute aus einer Magenader und dem peripherischen. Nur nach Mahlzeiten war mehr Antitrypsin in der Darmader als peripher.

Bei meinen 38 untersuchten Fällen zeigte es sich ebenfalls, daß bei den meisten Erkrankungen der antitryptische Titer erhöht war, sowohl bei bösartigen Geschwülsten als auch bei Lungentuberkulose und bei Gravidität. Jedoch kann auch bei allen diesen Krankheiten der Titer normal sein, z. B. 8 mal unter 22 Carcinomfällen.

Besondere Bedeutung gewinnen diese Resultate aber erst bei Vergleich mit dem Ausfall des Abderhaldenschen Dialysier-

verfahrens, den ich in der folgenden Tabelle für die Carcinomfälle zusammenstelle.

Tabelle IV.

(Vergleich des antitryptischen Titers mit dem Ausfall der Dialysiermethode.)

	Nr.	Diagnose	Abderh. Dial.	Antitrypsin	Nr.	Diagnose	Abderh. Dial.	Antitrypsin	Nr.	Diagnose	Abderh. Dial.	Antitrypsin	
Caseinmethode	1640	Magencarc.	+	120	1642	Carc. faciei	±	90	1606	Lymphosark.	—	110	Caseinmethode
	1645	Carc. uteri	++	130	1652	Carc. ventric.	?	140	1806	Epitheliom	—	110	
	1757	Carc. mammae	+	110	1655	Carc. uteri	±	130	1805	Carc. ventric.	—	6:1	
	1758	Maxill. tum.	+	120	1840	Carc. oesoph.	±	2:1	205	Carc. recti	—	7:1	Plattenmethode
Plattenmethode	1738	Carc. mammae	+	3:1	199	Carc. mammae	?	9:1	384	Epitheliom	—	8:1	
	1884	Carc. oesoph.	+	8:1	280	Carc. linguae	±	8:1	383	Carc. vaginae	—	6:1	
	244	Carc. mammae	+	9:1	351	Carc. vulvae	±	12:1	372	Carc. mandib.	—	7:1	
									385	Carc. mammae	—	10:1	

In die Tabelle habe ich nur die Carcinome aufgenommen, weil diese am zahlreichsten und einheitlichsten sind. In der ersten Rubrik stehen die mit der Dialysiermethode positiv reagierenden, in der Mitte die zweifelhaften und in der dritten die negativen. Neben der Bezeichnung für die Abderhalden-Methode stehen die erhaltenen Werte der Antitrypsinbestimmung, und zwar ist der mit der Caseinmethode erhaltene Wert 110 und darunter im Bereich des Normalen, mit der Plattenmethode 6 : 1 noch normal vorkommend. Auch hier sieht man, daß zwischen dem Ausfall beider Methoden keine Ähnlichkeit besteht, daß in allen Rubriken hohe und niedere Titer vorkommen. Unter diesen 22 Seren von Kranken mit bösartigen Geschwülsten ist nur ein Drittel mit der Dialysiermethode positiv, während doch zwei Drittel einen erhöhten antitryptischen Titer zeigen, und von den anderen 8 auch 5 an der oberen Grenze des Normalen stehen.

Zum Schluß gebe ich eine Zusammenstellung der Sera, die mit den drei oder vier Methoden untersucht wurden: der optischen und Dialysiermethode, der Glycyltryptophanprobe und dem Antitrypsinversuch. Drei unter diesen 19 Seren zeigen gleichen positiven Ausschlag der angewandten Methoden, zwei gleichen negativen. Unter den sieben mit allen vier Methoden untersuchten Fällen sind außerdem zwei mit entsprechenden drei Verfahren, wobei beidemal die Antitrypsinbestimmung entgegengesetzten Ausfall hatte. Die Verschiedenheiten der anderen gehen zur Genüge aus der Tabelle selbst hervor.

Tabelle V.

Nr.	Diagnose	Abderhalden opt.	Dialyse	Glyc.	Antitrypsin
1640	Magencarcinom . . .		+	−	erhöht
1805	„ . . .		−	+	normal
1806	Epitheliome		−	+	„
1840	Carc. oesophagi . . .		±	++	„
199	Carc. mammae inop. .		?	−	erhöht
244	„ „ „ .		+	++	„
366	Dementia praec. . . .		−	−	normal
368	Lupus vor 20 Jahren .		−	+	„
372	Carc. mandibul. . . .		−	±	erhöht
383	Carc. vaginae		−	++	normal
384	Epitheliome		−	−	erhöht
385	Carc. mammae		−	+	„
163	Gravidität	−	−	−	„
205	Carc. recti recid. . . .	+	−	±	„
230	Normal	−	−	−	normal
280	Carc. linguae	−	±	−	erhöht
309	Affectio apic.	+	+	+	„
351	Carc. vulvae	+	+	++	„
387	Abortus 2 Mon. . . .	+	+	+	normal

Auch aus dieser Gegenüberstellung ersieht man, daß allerdings gelegentlich ein gleichlautender Ausschlag aller angewandten Methoden zu bemerken ist, d. h. daß mitunter in den Seren ein erhöhter proteolytischer Fermentgehalt und Antifermentgehalt neben den Abderhaldenschen Fermenten nachweisbar ist, daß aber von einer Parallelität in ihrem Auftreten nicht gesprochen werden kann.

Zusammenfassung.

1. Die optische Methode lieferte mir nur in 21 von 27 Fällen Resultate, die mit dem klinischen Befund harmonierten, mehrfach waren jedoch unspezifische Drehungen vorhanden.

2. Die beiden Abderhaldenschen Methoden stimmten in 20 von 28 Untersuchungen überein und entsprachen in 19 von diesen der klinischen Diagnose.

3. Der Gehalt des Serums an peptolytischem Ferment, geprüft an Glycyltryptophan, geht nicht parallel mit dem Ausfall der Dialysiermethode, wenn auch manchmal beide Proben positiv oder negativ waren.

4. Auch ein hoher antitryptischer Titer zeigte keine sichere Parallelität mit dem Ausfall der Abderhalden-Reaktion, wenn

beide auch öfters gleiches Resultat ergaben. Speziell war bei Carcinom weit häufiger ein erhöhter antitryptischer Titer nachzuweisen (unter 22 Fällen 14 mal) als eine positive Abderhalden-Reaktion (7 mal).

5. In wenigen Fällen entsprachen sich alle vier Methoden und harmonierten mit dem klinischen Befund.

Literatur.

Abderhalden, Abwehrfermente. Springer, Berlin 1913 und 1914, 3. und 4. Aufl.

v. Bergmann und Meyer, Berl. klin. Wochenschr. **1908**, Nr. 37.

Boeckelmann und Simons, Bijdrage tot de kennis van het antitrypsingehalte van het menschlijk bloedserum. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk 1910, 2. Hälfte, Nr. 19.

Brieger, Demonstration zur Prognose des Carcinoms. Berl. klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 7.

Brieger und Schwalm, Über den Nachweis von Fermenten und Antifermenten auf die Farbplatten. Med. Klinik, Wien 1914.

Corsini, Beitrag zur Kenntnis des antitryptischen Fermentes im Blutserum. Atti R. Accad. Fisiocritici, anno 218, p. 777.

Deetjen und E. Fränkel, Untersuchungen über die Nynhydrinreaktion des Glucosamins und über die Fehlerquellen bei der Ausführung Abderhaldens Dialysierverfahrens. Münchner med. Wochenschr. **1914**, Nr. 9.

Fermi, Reagenzien und Versuchsmethoden zum Studium der proteolytischen und gelatinolytischen Enzyme. Arch. f. Hygiene **55**.

Flatow, Zur Frage der sog. Abwehrfermente. Münchner med. Wochenschr. **1914**, Nr. 21.

E. Fränkel, Über die Verwendung der Abderhaldenschen Reaktion bei Carcinom und Tuberkulose. Berl. klin. Wochenschr. **1914**, Nr. 8.

E. Fränkel und Gumpertz, Anwendung des Dialysierverfahrens (nach Abderhalden) bei der Tuberkulose. Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 33.

Franz und Jarisch, Beiträge zur Kenntnis der serologischen Schwangerschaftsdiagnostik. Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. 39.

V. Fresemann, Über die proteolytische und antitryptische Wirkung des menschlichen Serums. Inaug.-Dissert. Groningen 1911.

Derselbe, Über die proteolytische und antitryptische, resp. antitryptische Wirkung des menschlichen Blutserums. Folia microbiologica, Holländ. Beiträge **1912**, 260.

Freund und Brahm, Die Schwangerschaftsdiagnose mittels der optischen Methode und des Dialysierverfahrens. Münch. med. Wochenschr. **1913**, Nr. 13.

Gameltoft, Untersuchungen über die antiproteolytischen Substanzen während der Gravidität. Ugeskrift for Laeger **1913**, Nr. 30.

Girault und Rubinstein, Pouvoir antipeptique du serum humain dans les affections du tube digestif. Compt. rend. Soc. Biol. **72**, Nr. 26, 1912.

v. Graff und Zubrzycky, Über den Antitrypsingehalt des Blutes bei Schwangerschaft und Carcinom. Zeitschr. f. Geburtshilfe u. Gynäkol. **72**, 1912.

Groß, Versuche an Pankreaskranken. Deutsches Arch. f. klin. Med. **108**, Heft 1/2, 1912.

Isaja, Die antitryptische Reaktion bei bösartigen Tumoren und ihr Mechanismus. Tumori **1**, 87, 1911.

Kämmerer, Studien über die Antitrypsine. Deutsches Arch. f. klin. Med. **103**, Heft 3/4, 1911.

Kantorowicz, Eine neue Methode der Darstellung und Registrierung der Wirkung proteolytischer Fermente. Münch. med. Wochenschr. **1912**, Nr. 46.

Katzenbogen, Über die prognostische und diagnostische Bedeutung der Antitrypsinbestimmung im Blutserum. Berl. klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 41.

Kjaergaard, Über Abderhaldens Graviditätsbestimmung, ihre Methodik und Spezifität. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig.-Bd. **20**, Heft 1.

Krym, Über diagnostische Bedeutungen der Eigenschaften des Blutserums. Prakticzesky Wratsch **190**, 51, Nr. 50.

C. Lange, Erfahrungen mit dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren. Diese Zeitschr. **61**, Heft 3/4.

Lenk und Pollak, Über das Vorkommen von peptolytischen Fermenten in Exsudaten und dessen diagnostische Bedeutung. Deutsches Arch. f. klin. Med. **109**, Heft 3/4.

Mandelbaum, Über peptolytische Fermente in Zellen und im Blute. Münch. med. Wochenschr. **1914**, Heft 9.

Markus, Berl. klin. Wochenschr. **1908**, Nr. 14; **1909**, Nr. 4.

Mello, Ricerche sopra la siero di cavalli affetti da tumori. Arch. Scient. R. Soc. Nat. **8**, 21, 1910.

Meyer, Kritisches und Experimentelles zur Lehre vom Antitrypsin. Fol. Serol. **7**, 471, Heft 5, 1911.

Derselbe, Zur Antitrypsinverminderung beim Diabetes. Diese Zeitschr. **40**, 125.

Mießner und Immisch, Die optische Methode und ihre Anwendung in der Schwangerschaft. Mitt. d. Kaiser Wilh.-Instit. f. Landwirtschaft in Bromberg **1912**.

Petri, Über Fermentreaktion im Serum Schwangerer, Kreißender und Wöchnerinnen. Vortrag. Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 27.

Derselbe, Über das Auftreten von Fermenten im Tier- und Menschenkörper nach parenteraler Zufuhr von art- und individuumeigenem Serum. Münch. med. Wochenschr. **1913**, Nr. 21.

Pinkuss, Die Bedeutung der Antitrypsinbestimmung für die Diagnose des Carcinoms. Berl. klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 21.

Derselbe, Weitere Erfahrungen über serologische Verlaufe und Behandlung des Carcinoms. Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 2/3.

Rosenthal, Untersuchungen über die antiproteolytische Wirkung des Blutserums. Folia serolog. **6**, 285, Heft 3, 1911.

Derselbe, Sierodiagnosi della gravidanze. Biochimica e Terap. Sper. **3**, 160, 1911.

Derselbe, Über die Serumdingnose der Schwangerschaft. Vortrag. Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 25.

Derselbe, Über weitere Erfahrungen mit der serologischen Schwangerschaftsdiagnostik. Berl. klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 25.

Remedi und Bolognesi, Les antiferments proteolytiques du serum du sang. Arch. ital. de Biol. **56**, 187, 1912.

Rübsamen, Zur biologischen Diagnose der Schwangerschaft mittels der optischen Methode und des Dialysierverfahrens. Münch. med. Wochenschr. **1913**, Nr. 13.

Saxl, Zur Kenntnis der proteolytischen Enzyme im Serum Gesunder und Kranker. Med. Klin. Wien **1914**.

Thar und Kotschneff, Beiträge zur Kenntnis der Abderhalden-Reaktion. Diese Zeitschr. **63**, Heft 4, 5, 6.

Waelli, Zur Frage der klinischen Bedeutung des Antitrypsins im Blutserums. Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **25**, Heft 1, 1912.

Weinberg und Rubinstein, Recherches sur le pouvoir antitryptique du serum. Compt. rend. Soc. Biol. **72**, Nr. 1, 1912.

Welecki, Der diagnostische und prognostische Wert der Antitrypsinreaktion des Blutserums beim Gebärmutterkrebs. Przeglad Lekarski **1912**, Nr. 14.

Zitronblatt, Die diagnostische Bedeutung des Antitrypsins des Blutserums bei Carcinom und anderen Erkrankungen. Wratschebnaja Gazeta **1911**, Nr. 17, 19.

Zlatogorow und Scheremez, Über die Bildung des Antitrypsins und über die praktische Bedeutung der antitryptischen Reaktion. Wratschebnaja Gazeta **1912**, Nr. 1 bis 4.

Lebenslauf.

Ich, Georg Ernst Julius Hälsen, wurde am 27. November 1888 als Sohn des Bankdirektors Wilhelm Hälsen und seiner Frau Johanne geb. Brehme zu Hannover geboren. Nach dem Besuch der Vorschule in Hildesheim und des Kgl. Schillergymnasiums in Münster in Westfalen bestand ich die Reifeprüfung dieser Anstalt im Herbst 1908. Ich widmete mich dem Studium der Medizin an den Universitäten Heidelberg, München und wieder Heidelberg, wo ich Wintersemester 1910/11 das medizinische Vorexamen und am 19. Dezember 1913 das medizinische Staatsexamen bestand. Seitdem arbeite ich als Medidizinalpraktikant am Institut für Krebsforschung in Heidelberg.

Heidelberg, den 22. Juni 1914.

Georg Hälsen.